

**PEMBUATAN BIOETANOL DARI NIRA NIPAH SECARA
SEMI SINAMBUNG (*FEDBATCH*) DENGAN PENAMBAHAN UREA DAN
*CORDYCEPS MYCELLIUM***

**BIOETHANOL PRODUCTION FROM NYPA SAP SEMI-CONTINUOUS
(*FEDBATCH*) TECHNIQUE WITH THE ADDITION OF UREA AND
*CORDYCEPS MYCELLIUM***

Dede putra pranata¹, Fajar Restuhadi², Evy Rossi²
Program Studi Teknologi Hasil Pertanian, Jurusan Teknologi Pertanian
Fakultas Pertanian, Universitas Riau, Kode pos 28293, Indonesia
Dedeputra pranata@gmail.com

ABSTRACT

The purpose of this study was to obtain best combination urea and *Cordyceps mycellium* on the quality of concentration ethanol. The research was implemented to determine the optimization production of bioethanol by fermentation method technique *Very high gravity fermentation (VHGF)* with free cell to see the effect of the combination treatment in an increase in bioethanol. This research was conducted an experiment with two factors, the first factor is Urea which consists of four levels and the second factor is *Cordyceps mycellium* consisting of three levels each treatment combination obtained twelve experimental units. Combination of Urea levels are U₁ (0 g/l); U₂ (0.2 g/l); U₃ (0.4 g/l); U₄ (0.6 g/l), while the combination of *Cordyceps mycellium* levels C₁ (0 g/l); C₂ (0.5 g/l); C₃ (1 g/l). Observations were made every 24 hours; covering sugar, ethanol content, the number of cells, and pH. The data were analyzed descriptively by using a tabular or graphical. The best treatment is a combination of U₂C₂ (Urea 0.2 g/l and *Cordyceps mycelium* 0.5 g/l) that resulted in the largest ethanol 22.5%.

Keywords: *Nypa sap*, *VHGF*, Bioethanol, *Cordyceps mycellium*, and Urea

PENDAHULUAN

Vegetasi tanaman nipah (*Nypa fruticans*) yang melimpah di Kabupaten Bengkalis sangat berpotensi untuk dikembangkan menjadi bahan baku industri bioenergi terbarukan, dalam hal ini bioetanol. Nira nipah berpotensi untuk menghasilkan 15.600 liter etanol per hektar atau 2 kali lipat hasil yang diperoleh dari tebu dan 6 kali lipat hasil dari jagung (Tamunaidu dkk. 2011). Oleh sebab itu, pada tahun 2011 Ditjen Energi Baru, Terbarukan dan Konservasi Energi,

Kementerian ESDM membangun 2 unit *pilot plant* bioetanol berbahan baku nira nipah dengan kapasitas terpasang 300 L/hari di Desa Lubuk Muda dan sisanya di Desa Pambang Kabupaten Bengkalis.

Mengingat lokasi hutan nipah sebagai sumber bahan baku yang umumnya merupakan daerah rawa, maka proses pengumpulan nira nipah dari lokasi sentra penyadapan ke tempat pengolahan relatif cukup berat. Tidak jarang nira yang terkumpul telah terfermentasi menjadi asam, sehingga menurunkan

kualitas nira dan produktivitas jika diolah menjadi bioetanol. Oleh sebab itu, strategi yang ditawarkan dalam kegiatan ini adalah kajian terhadap kelayakan teknis dan teknologi dengan melakukan sejumlah eksperimen untuk mendapatkan kondisi fermentasi optimum dengan memperkenalkan proses fermentasi nira kental (*Very high gravity*). *Very high gravity* adalah proses fermentasi dengan menggunakan medium yang mengandung kadar gula yang tinggi, mencapai sekitar 250 gr/liter (Liu dkk., 2011).

Peningkatan produktivitas dan mengoptimalkan biaya produksi bioetanol diperlukan upaya untuk memperkenalkan proses fermentasi nira kental (*very high gravity fermentation*). Proses ini melibatkan nira dengan konsentrasi gula 200 g/l atau lebih. Teknik ini memiliki sejumlah keunggulan, seperti meningkatkan konsentrasi etanol yang dihasilkan dan juga meningkatkan laju fermentasi, sehingga dapat mengurangi biaya produksi dan mengurangi resiko kontaminasi oleh bakteri (Casey dkk., 1984). Faktor pembatas yang menghambat produksi etanol adalah defisiensi nutrisi. Penambahan lipid, terutama *ergosterol* dan asam lemak tak jenuh memberikan efek yang signifikan terhadap pertumbuhan dan metabolisme sel ragi bebas (Guimaraes, 2006).

Asam lemak tak jenuh yang merupakan komponen penting bagi membran sel umumnya tidak banyak terkandung di dalam media nira kental sehingga perlu ditambahkan untuk meningkatkan kinerja metabolisme sel (Boulton & Quain, 2001). *Tween80TM* dan *Ergosterol* dapat digunakan untuk meningkatkan kinerja sel ragi dalam memproduksi bioetanol dari nira nipah kental. Selain dari asam lemak tak jenuh dan sterol, urea sebagai salah satu zat hara yang dapat digunakan sebagai nutrisi untuk pertumbuhan sel *Saccharomyces cerevisiae* dalam proses fermentasi

bioetanol. Penelitian ini mencoba untuk melihat peran *Ergosterol* dan *Tween80TM* dalam upaya mengoptimalkan proses fermentasi nira nipah menjadi bioetanol.

Metode semi sinambung ini juga cocok untuk diterapkan pada industri yang berbahan baku dari nira nipah yang tersebar di area yang relatif cukup jauh dari pengumpul nira sehingga dapat mencegahnya dari terfermentasi secara spontan, yakni dengan cara mengentalkan nira yang diperoleh sehingga bisa menjadi lebih tahan dan mengurangi resiko berkurangnya mutu nira akibat terkontaminasi selama penyimpanan.

Penelitian tentang pembuatan bioetanol telah dilakukan menggunakan metode *Fedbatch* dari beberapa sumber. Situmorang (2015) telah membuat bioetanol dari nira nipah kental secara semi sinambung dengan penambahan *Tween80TM* dan *ergosterol*, Altawanova (2015) membuat fermentasi nira nipah menjadi bioetanol menggunakan teknik immobilisasi sel *Saccharomyces cerevisiae*. Hasil yang diperoleh yaitu sistem *Fedbatch* lebih efisien bila dibandingkan dengan sistem *batch* dalam produksi bioetanol, karena metode *Fedbatch* melakukan penambahan nutrisi per hari, lain dengan *batch* hanya menggunakan nutrisi di awal saja.

Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah melihat kombinasi perlakuan terbaik urea dan *Cordyceps mycelium* dalam pembuatan bioetanol menggunakan metode semi sinambung (*Fedbatch*) tanpa penggunaan *Tween 80TM* serta melihat berperan atau tidaknya *Cordyceps mycelium* ini dijadikan bahan pengganti *Ergosterol* murni dan urea sebagai nutrisi tambahan untuk mengoptimalkan pembentukan bioetanol.

BAHAN DAN METODE

Tempat dan Waktu

Penelitian ini akan dilakukan di Laboratorium Pengolahan Hasil Pertanian, Laboratorium Analisis Hasil Pertanian Fakultas Pertanian dan Laboratorium Bioproses Fakultas Teknik Universitas Riau. Waktu penelitian berlangsung selama enam bulan yaitu antara bulan Agustus hingga bulan Januari 2016.

Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah nira nipah dari (desa lubuk muda dan desa pambang, kabupaten bengkalis), urea, *Cordyceps mycellium* (Tianshi), ragi roti *soft instant*, alkohol 70%, akuades dan garam fisiologis. Bahan-bahan yang digunakan untuk analisis adalah *methylene blue*, indikator pati, indikator PP, Na_2CO_3 , KI 20%, Na_2SO_4 , H_2SO_4 26,5%, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, asam sitrat, $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,1N.

Alat-alat yang digunakan adalah galon berkapasitas 12 liter, erlenmeyer, gelas ukur, corong, pipet ukur, labu ukur, tabung reaksi, penjepit dan pipet tetes. Peralatan analisis yaitu pH meter, mikroskop, alkohol meter, *haemocytometer* dan *rotary evaporator*, *shaker machine*. Alat lainnya seperti timbangan analitik, spatula, *autoclave*, *automatic mixer*, kapas penutup, aluminium foil, *hot plate*, inkubator, kompor gas, *laminar flow cabinet*, lampu spritus, lemari es, kamera, tisu, kain lap, korek api, peralatan tulis dan alat lainnya.

Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode deskriptif dengan menggunakan dua faktor perlakuan. Faktor perlakuan pertama adalah konsentrasi urea yang terdiri dari empat taraf dan faktor perlakuan kedua adalah penggunaan *Cordyceps mycellium* yang terdiri dari tiga taraf. Masing-

masing kombinasi perlakuan diperoleh 12 unit percobaan.

Faktor pertama Urea (U)

$U_1 = 0 \text{ g/l}$

$U_2 = 0,2 \text{ g/l}$

$U_3 = 0,4 \text{ g/l}$

$U_4 = 0,6 \text{ g/l}$

Faktor kedua *Cordyceps Mycellium* (C)

$C_1 = 0 \text{ g/l}$

$C_2 = 0,5 \text{ g/l}$

$C_3 = 1 \text{ g/l}$

Pelaksanaan Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan selama sembilan hari, yaitu membuat bioetanol dari nira nipah kental secara semi sinambung dengan perlakuan kombinasi urea dan *Cordyceps mycellium* dari Tianshi serta menggunakan sel *Saccharomyces cereviceae*, dari ragi merk *soft instan*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kadar Gula Pereduksi

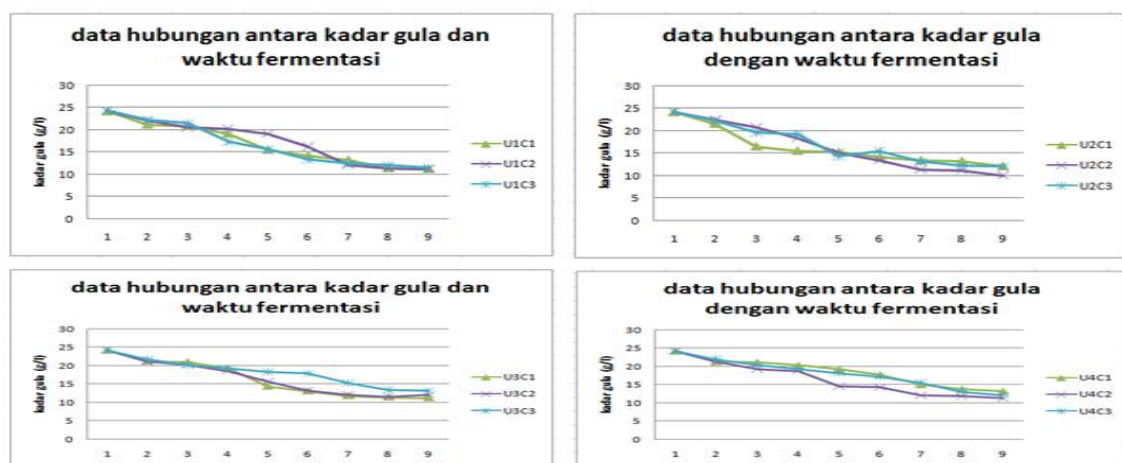
Berdasarkan data Tabel 1 dapat dilihat bahwa untuk semua perlakuan dari hari pertama hingga hari kesembilan mengalami penurunan untuk nilai kadar gula pereduksinya. Hal ini dikarenakan gula merupakan bahan baku utama yang akan dirombak sel *Saccharomyces cerevisiae* untuk dijadikan etanol. Selain untuk menghasilkan etanol *Saccharomyces cerevisiae* juga memanfaatkan gula untuk pertumbuhan sel, pemeliharaan sel dan menghasilkan produk lainnya seperti gliserol, asam asetat, asam laktat dan asam suksinat (Draphco dkk., 2008). Nilai rata-rata hasil pengukuran kadar gula dari hari pertama hingga hari kesembilan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Nilai kadar gula pereduksi (g/l) pada proses fermentasi pada hari pertama hingga hari kesembilan

PERLAKUAN (%)	HARI								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
U1C1	24,18	21,20	20,86	19,2	15,56	14,2	13,23	11,46	11,23
U2C1	24,20	21,62	16,52	15,55	15,25	14,15	13,4	13,23	12,14
U3C1	24,20	21,24	21,02	19,27	14,4	13,15	11,87	11,50	11,23
U4C1	24,25	21,30	21,15	20,36	19,25	17,76	15,11	13,87	13,24
U1C2	24,23	22,12	20,59	20,28	19,18	16,24	12,11	11,46	11,23
U2C2	24,18	22,50	20,72	18,43	15,22	13,45	11,34	11,21	10,10
U3C2	24,19	21,12	20,19	18,59	15,65	13,2	12,1	11,57	12,12
U4C2	24,23	21,41	19,26	18,8	14,60	14,32	12,13	11,87	11,34
U1C3	24,24	22,20	21,34	17,22	15,56	13,29	12,32	11,98	11,45
U2C3	24,20	22,25	19,6	19,25	14,43	15,59	13,23	12,21	12,10
U3C3	24,21	21,75	20,26	19,28	18,32	17,92	15,35	13,46	13,25
U4C3	24,21	22,04	20,35	19,26	18,24	17,24	15,57	13,18	12,15

Pada Tabel 1 dapat dilihat perlakuan urea dan *Cordyceps mycellium* memberikan pengaruh terhadap penurunan kadar gula reduksi pada hari pertama hingga akhir fermentasi. Hal ini disebabkan karena sel yang telah aktif memanfaatkan gula didalam fermentor dan selain gula dilakukan penambahan nutrisi yang dapat memaksimalkan aktifitas ragi dalam memanfaatkan gula di dalam media fermentasi. Perlakuan U₂C₂

adalah perlakuan yang memiliki kadar gula terendah dibandingkan perlakuan lainnya. Berkurangnya kadar gula tersebut dikarenakan sel memanfaatkan gula didalam media fermentasi, sedikitnya kadar gula pada perlakuan tersebut mengindikasikan bahwa sel khamir banyak mengkonsumsi gula didalam media fermentasi. Untuk gambar grafik pengamatan kadar gula reduksi dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Pengamatan kadar gula setiap hari

Berdasarkan Gambar 1 dapat dilihat bahwa untuk semua perlakuan kadar gula mengalami penurunan dari hari

pertama hingga akhir fermentasi. Pengamatan pada Gambar 1 diatas adalah pengamatan berdasarkan kombinasai urea

dan *Cordyceps mycellium* dimana urea merupakan nutrisi yang diperlukan dalam penelitian ini, karena urea sangat banyak mengandung unsur nitrogen. Di dalam media fermentasi yang berbahan baku nira nipah sebenarnya sudah ada terkandung unsur nitrogen tetapi dalam jumlah yang sedikit sehingga diperlukan penambahan unsur nitrogen yang didapat dari urea. Unsur nitrogen sangat penting dalam kinerja khamir dimana khamir dapat memanfaatkan unsur nitrogen ini untuk membentuk energi.

Sedangkan *Cordyceps mycellium* adalah nutrisi yang banyak mengandung asam lemak tak jenuh, asam lemak tak jenuh ini sangat penting bagi sel khamir. Asam lemak yang tak jenuh biasanya dimanfaatkan oleh sel khamir untuk dijadikan pembentuk dinding membran sel khamir. Dimana dinding membran sebagian besar di susun oleh lipid dan protein yang berfungsi dalam semua aktivitas biosintesis (Prescott dkk., 1999).

Penurunan kadar gula yang cukup besar dari garfik adalah perlakuan U_2C_2 . Dimana urea dengan jumlah 0,2 g/l sedangkan *Cordyceps mycellium* dengan jumlah 0,5 g/l. Hal ini mengindikasikan bahwa perlakuan kombinasi ini memberikan dampak yang besar dalam pembentukan konsentrasi etanol yang tinggi. Penggunaan urea terbaik menurut Sapariantin (2006) adalah 0,6 g/l dimana pada penelitiannya jumlah ini sangat cocok dalam media fermentasinya, karena penelitian ini menggunakan jenis mikroorganisme bakteri yang khusus untuk memproduksi bioetanol. Hal ini berbanding terbalik dengan penelitian ini dimana penggunaan yang cocok pada media fermentasi ini adalah 0,2 g/l, karena dalam penelitian ini menggunakan mikroorganisme jenis khamir yang biasanya hanya di pakai dalam pembuatan industri makanan. Penelitian ini tidak ditambahkan nutrisi *Tween 80TM*, seperti dalam penelitian Situmorang (2015)

media fermentasinya ditambahkan *Tween80TM*, dimana peran *Tween 80TM* ini sangat erat dengan penurunan tegangan permukaan dan keaktifan sel khamir dalam mengkonsumsi gula. Sehingga dalam penelitian ini menyebabkan sel mengalami osmosis sel karena konsentrasi gula tinggi, yaitu 25%. Konsentrasi seperti ini disebut konsentrasi tinggi karna dapat menyebabkan terjadinya osmotik shock pada sel khamir dan dapat membuat sel stres. Berbeda halnya dengan penelitian Situmorang (2015) yang mendapat keuntungan dengan penambahan *Tween 80TM* pada medianya yang dapat mencegah sel kahmir dari keadaan osmosis sel karna tegangan permukaan yang tinggi.

Jumlah penggunaan nutrisi *Cordyceps mycellium* yang terbaik pada penelitian ini dengan jumlah 0,5 g/l, ini sesuai dengan jumlah penggunaan dari penelitian Altawanova (2015) yang mana dia menggunakan *Cordyceps mycellium* capsul dengan perlakuan terbaiknya yaitu 0,5 g/l. Dimana jumlah ini sudah sangat cukup bagi sel untuk mempertahankan dinding membran pada sel khamir dari kadar gula yang tinggi dan dapat membuat sel stres dan mati. Dimana dinding membran ini berperan dalam meningkatkan ketahanan sel mikroba dalam medium fermentasi untuk menghasilkan bioetanol dengan kadar yang lebih tinggi. Menurut Dawes dan Sutherland (1992) *Ergosterol* dapat meningkatkan pertumbuhan mikroorganisme, kegiatan fermentasi, dan bioetanol yang dihasilkan dari hasil fermentasi.

Derajat keasaman

Berdasarkan data Tabel 2 dapat dilihat bahwa untuk semua perlakuan dari hari pertama hingga akhir fermentasi mengalami perubahan untuk derajat keasaman (pH). Derajat keasaman adalah salah satu faktor penting yang dapat

mempengaruhi berjalannya proses fermentasi dalam pembentukan bioetanol. Enzim pada sel khamir yang akan mengubah gula dan memecahnya menjadi gula-gula sederhana lalu difermentasi secara anaerob dan menghasilkan bioetanol, aktivitas tersebut dipengaruhi oleh pH, karena sel khamir akan bekerja secara optimum pada pH tertentu (Andika, 2015). Oleh karena itu pH media

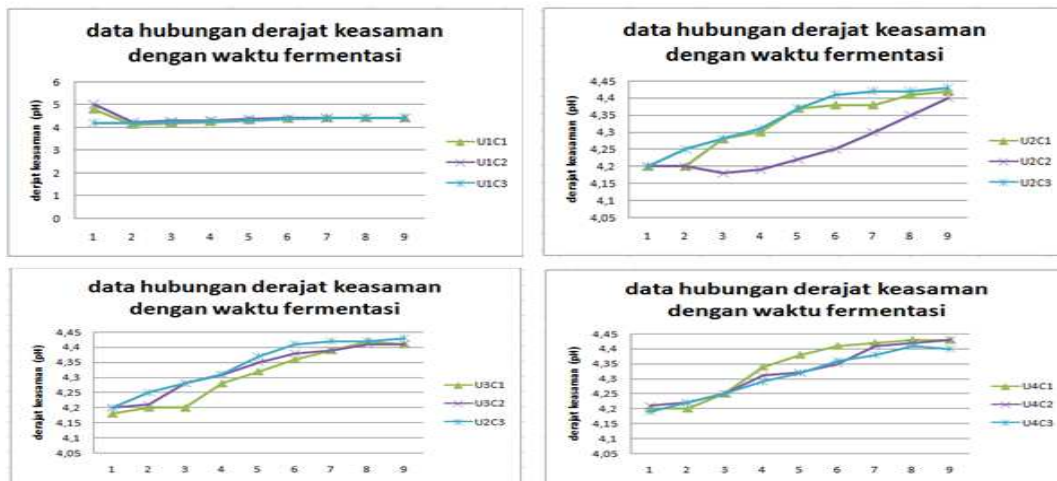
fermentasi dalam penelitian ini disesuaikan pHnya, agar sel khamir mendapatkan kondisi yang optimum selama proses fermentasi untuk pembentukan bioetanol. Nilai rata-rata untuk pH di setiap pengukuran dari hari pertama hingga akhir fermentasi dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Rata-rata nilai derajat keasaman (pH) pada fermentasi hari pertama hingga hari kesembilan

PERLAKUAN (pH)	HARI								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
U1C1	4,79	4,12	4,18	4,25	4,32	4,38	4,41	4,42	4,41
U2C1	4,20	4,20	4,28	4,30	4,37	4,38	4,38	4,41	4,42
U3C1	4,18	4,20	4,20	4,28	4,32	4,36	4,39	4,42	4,41
U4C1	4,20	4,20	4,25	4,34	4,38	4,41	4,42	4,43	4,43
U1C2	5,02	4,23	4,30	4,32	4,39	4,40	4,41	4,42	4,42
U2C2	4,20	4,20	4,18	4,19	4,22	4,25	4,30	4,35	4,40
U3C2	4,20	4,21	4,28	4,31	4,35	4,38	4,39	4,41	4,41
U4C2	4,21	4,22	4,25	4,31	4,32	4,35	4,41	4,42	4,43
U1C3	4,20	4,21	4,24	4,27	4,32	4,39	4,41	4,42	4,42
U2C3	4,20	4,25	4,28	4,31	4,37	4,41	4,42	4,42	4,43
U3C3	4,20	4,25	4,30	4,32	4,36	4,41	4,41	4,42	4,40
U4C3	4,19	4,22	4,25	4,29	4,32	4,36	4,38	4,41	4,40

Pertumbuhan sel sangat erat kaitannya dengan keadaan media (pH) dimana bagi sel khamir apabila media terlalu asam atau basa maka sel akan mengalami kematian, karena tidak cocoknya media tumbuh bagi sel khamir. Maka perlu dilihat kondisi pH yang cocok untuk media tumbuh sel khamir agar dapat mengoptimal kinerja sel dalam

pembentukan bioetanol. Berdasarkan Tabel 8 dapat dilihat bahwa kondisi pH masing-masing perlakuan pada media fermentasi nira nipah kental berbeda-beda, untuk mempermudah melihat kondisi pH. Secara keseluruhan dapat melihat memalui grafik derajat keasaman pada Gambar 2.



Gambar 2. Pengamatan derajat keasaman (pH) setiap hari

Dari Gambar 2 dapat dilihat bahwa untuk semua perlakuan pada pengamatan derajat keasaman mengalami perubahan pH dari hari pertama hingga akhir fermentasi. Hal ini dikarenakan sel khamir sudah mendapatkan kondisi yang optimum dengan media fermentasi, sehingga sel khamir dapat bekerja untuk memanfaatkan gula didalam media dan merombaknya menjadi bioetanol, selain bioetanol juga menghasilkan asam-asam organik, asam-asam organik ini dapat menurunkan nilai pH dalam media fermentasi. Sehingga membuat media fermentasi mengalami perubahan pH dari hari ke hari hingga akhir fermentasi. Perubahan pH didalam penelitian ini tidak terlalu asam dan tidak terlalu basa jadi dapat di lihat media tersebut dapat disebut sebagai media yang optimum untuk sel *Sacharomyces cereviceae*. Derajat keasaman sangat besar pengaruhnya bagi sel khamir apabila sel mengalami stres dan menyebabkan kurang optimal dalam pembentukan bioetanol.

Oleh karena itu pada awal pelaksanaan penelitian media yang akan difermentasi diatur derajat keasaman pHnya menjadi 5, ini bertujuan untuk mendapatkan kondisi yang optimum bagi sel khamir sehingga perombakan gula

menjadi bioetanol dapat bekerja secara optimal.

Penurunan pH terjadi setiap hari, pH sangat erat kaitannya dengan perkembangan sel dan pembentukan bioetanol, dimana apabila pH mengalami perubahan yang dapat membuat sel terganggu maka pembentukan bioetanol akan terganggu pula, sehingga produksi kadar etanol akan menurun. Ditambahkan oleh Imam (2008) bahwa produksi bioetanol oleh sel *Saccharomyces cereviceae* yang paling optimum dapat dicapai dengan kondisi pH 4,2-6,5.

Perhitungan Jumlah Sel

Berdasarkan data dari Tabel 3 dapat dilihat bahwa untuk semua perlakuan dari hari pertama hingga hari kesembilan mengalami kenaikan dan penurunan setiap hari untuk perhitungan jumlah sel. Mikroba yang digunakan pada penelitian ini adalah *saccharomyces cerevisiae*. *Saccharomyces cereviceae* dijadikan sebagai perombak gula dalam media fermentasi untuk menghasilkan bioetanol. Tanpa adanya mikroba dalam sebuah media fermentasi, proses fermentasi tidak akan berjalan dengan baik. Perhitungan jumlah sel dilakukan untuk mengetahui ketahanan sel pada saat fermentasi berlangsung.

Perhitungan sel terbagi dua cara yaitu, secara langsung dan tidak langsung. Untuk penelitian ini menggunakan metode secara langsung menggunakan *haemocytometer*. *Haemocytometer* biasanya hanya dilakukan pada fermentasi yang menggunakan sel bebas, karena lebih mudah dihitung secara langsung dengan mikroskop. Penggunaan sel bebas diharapkan dapat melihat apakah sel tersebut dapat memanfaatkan nutrisi pada

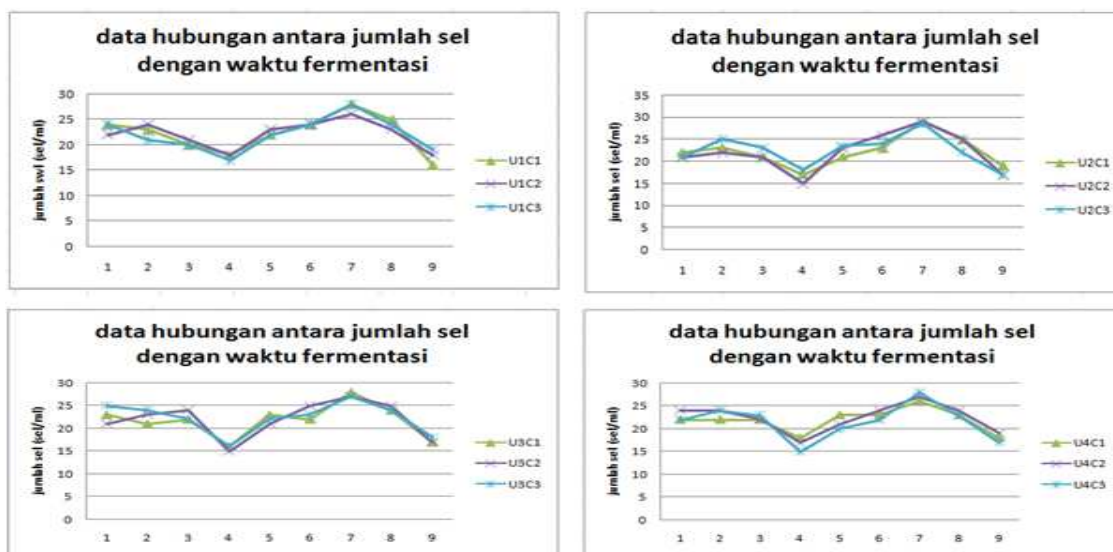
media fermentasi untuk membentuk etanol, dan juga diharapkan dapat melihat apakah sel dapat tahan terhadap senyawa penambah maupun senyawa yang dihasilkan dari hasil fermentasi karena penambahan nutrisi yang dilakukan setiap hari. Nilai rata-rata jumlah mikroba mulai dari hari pertama hingga hari kesembilan dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Rata-rata jumlah sel mikroba pada fermentasi hari ke-1 hingga hari ke-9

PERLAKUAN (sel/ml)	HARI								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
U1C1	24	23	20	17,5	22	24	28	25	16
U2C1	22	22,5	21	17	21	22,5	29	24,5	18,5
U3C1	22,5	21	21,5	16	23	22	27,5	24	16,5
U4C1	21	22	22	18,5	23	23	26	22,5	18
U1C2	22	24	21	18	22,5	24	26	23	18
U2C2	21	21,5	20,5	15	23	25,5	29	25	16,5
U3C2	21	23	24	15,5	21	25	27,5	25	16,5
U4C2	24,5	24	22	17	20,5	24	27	23,5	19
U1C3	23,5	21	20	17,5	22	23,5	28,5	24	19
U2C3	21	25	23	18	23,5	24	28,5	22	16,5
U3C3	25	24	22	16	21,5	23	27	24	17,5
U4C3	22	24,5	21,5	15	20	22	28	23	15,5

Data Tabel 3 dapat dilihat bahwa terjadi kenaikan dan penurunan grafik untuk setiap perlakuan pada penelitian ini. Hal ini menunjukkan baik masing-masing dari perlakuan maupun interaksi dari kedua faktor memberikan pengaruh yang besar terhadap jumlah sel pada media fermentasi. Dapat dilihat untuk semua perlakuan mengalami proses fase pertumbuhan (*Log phase*), fase stasioner dan fase kematian. Dimana pada Tabel 3 dapat dilihat untuk semua hari pada semua

perlakuan mengalami proses kenaikan dan proses penurunan sebelum menjelang proses fermentasi berakhir, sehingga disini peran faktor urea dan *Cordyceps mycellium* untuk mempertahankan sel dan membuat sel dapat berkembang biak. Agar mempermudah dalam melihat data sel dapat melihat gambar grafik. Untuk gambar grafik derajat keasaman dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Pengamatan jumlah sel setiap hari

Berdasarkan Gambar 3 dapat dilihat bahwa terjadi kenaikan dan penurunan grafik untuk setiap perlakuan pada penelitian ini. Hal ini menunjukkan baik dari perlakuan maupun interaksi dari kedua faktor memberikan pengaruh yang besar terhadap jumlah sel pada media fermentasi. Sel yang mengalami kenaikan dan penurunan dikarenakan pada hari pertama hingga hari ketiga sel mengalami proses adaptasi dimana media yang digunakan pada proses fermentasi ini menggunakan media nira nipah kental, media nira nipah kental juga memiliki kelemahan yaitu ditakutkan sel khamir mengalami osmosis sel. Menurut Waites dkk (2001) terjadinya proses osmosis sel karena konsentrasi media lebih tinggi dibandingkan cairan didalam sel. Ketidakseimbangan ini yang menyebabkan jumlah sel pada media mengalami kenaikan dan penurunan. Ditambah karena media fermentasi dalam penelitian ini tidak ditambahkan Tween 80TM seperti penelitian Situmorang (2015), sehingga membuat tegangan permukaan pada media semakin tinggi dan membuat sel susah dalam beradaptasi serta berkembang biak didalam media fermentasi. Gula dimanfaatkan sel selain

untuk menyeimbangkan konsentrasi cairan didalam sel, juga digunakan sebagai sumber energi bagi ragi baik untuk perbaikan sel maupun perkembangbiakan sel (Drapcho dkk., 2008). Maka disini peran urea berguna sebagai penambah nutrisi dimana urea banyak mengandung nitrogen, nitrogen disini dapat memberikan sel khamir energi untuk berkembang biak dan memperbanyak diri. Menurut Pinus dan Marsono (2009) pupuk urea berfungsi sebagai nutrisi bagi sel khamir dalam proses fermentasi karna urea banyak mengandung unsur nitrogen yang dibutuhkan oleh ragi.

Sedangkan pada hari keempat hingga hari ketujuh sel mengalami kenaikan hal ini dikarenakan sel sudah mulai dapat beradaptasi dengan media ditambah lagi sel mendapat nutrisi pada hari keempat yaitu dari *Cordyceps mycellium*, *Cordyceps mycellium* ini hanya ditambahkan pada hari keempat saja karena pada hari keempat bioetanol didalam media sudah mulai terbentuk banyak sehingga ditakutkan sel mati karena tercucinya membran lipid pada sel oleh etanol yang terbentuk. Maka perlu ditambahkan sebuah nutrisi yang dapat

menggantikan membran lipid yang rusak tadi yaitu didapatlah nutrisi tersebut dari *Cordyceps mycellium*.

Sebenarnya untuk pengganti membran lipid itu sendiri dapat dengan mudah ditambahkan nutrisi dari *Ergosterol* murni tetapi karena harganya yang cukup mahal dan susah didapat, maka pada penelitian ini didapat bahan pengganti dari *Ergosterol* tersebut dari *Cordyceps mycellium*. Hal ini dikarenakan *Cordyceps mycellium* mengandung asam lemak tak jenuh yang tinggi dimana asam lemak tak jenuh ini adalah bahan pembentuk dari *Ergosterol*, dimana *ergosterol* terbentuk dari asam lemak tak jenuh maka *Cordyceps* ini dapat dijadikan bahan pengganti dengan harga yang cukup terjangkau dibandingkan *Ergosterol* murni.

Untuk hari kedelapan dan kesembilan sel sudah memasuki fase akhir fermentasi dimana untuk semua perlakuan mengalami penurunan hal ini dapat terjadi dikarenakan nutrisi didalam media telah berkurang sehingga sedikit gula yang dapat di manfaatkan oleh sel. Selain itu, dapat juga terjadi dikarenakan bioetanol yang terbentuk membuat sel khamir mati karena tercucinya dinding lipid membran oleh bioetanol, sedangkan nutrisi yang ditambahkan pada hari keempat sudah tidak dapat berfungsi pada akhir fermentasi.

Pernyataan di atas diperkuat oleh Dawes dan Sutherland (1992) menyatakan membran plasma yang berperan penting dalam regulasi osmotik, penyerapan nutrisi dan biosintetis dinding sel diduga kurang berperan menjelang akhir fermentasi karena jumlah etanol yang tinggi yang dapat menyebabkan sel lisis akibat larutnya fosfolipid yang ada pada membran sel. Pada akhir fermentasi tetap terjadi pembentukan bioetanol dikarenakan proses fermentasi tetap akan berlangsung selama sel masih memiliki

energi untuk merombak gula yang masih terkandung didalam media fermentasi, sel akan berhenti merombak pada saat media tidak memiliki kandungan gula dan sel tidak memiliki makanan untuk merombak gula menjadi energi.

Kadar Etanol

Berdasarkan data dari Tabel 4 dapat dilihat bahwa untuk semua perlakuan dari hari pertama hingga hari kesembilan mengalami kenaikan setiap hari untuk kadar bioetanol. Etanol merupakan hasil perombakan gula dari lanjutan proses glikolisis dalam keadaan anaerob yang dilakukan oleh *Saccharomyces cerevisiae* (Draphco dkk., 2008). Selama proses fermentasi, mikroba akan mengkonversi sumber karbon dari substrat menjadi biomassa dan produk, baik produk utama yaitu etanol maupun produk sampingan berupa asam-asam organik seperti asam piruvat melalui proses glikolisis. Perombakan gula dalam keadaan anaerob yang dibantu dengan mikroorganisme khamir yaitu *Saccharomyces cereviceae*. Nilai kadar bioetanol setiap hari diukur dari hari pertama hingga hari kesembilan dapat dilihat pada Tabel 4.

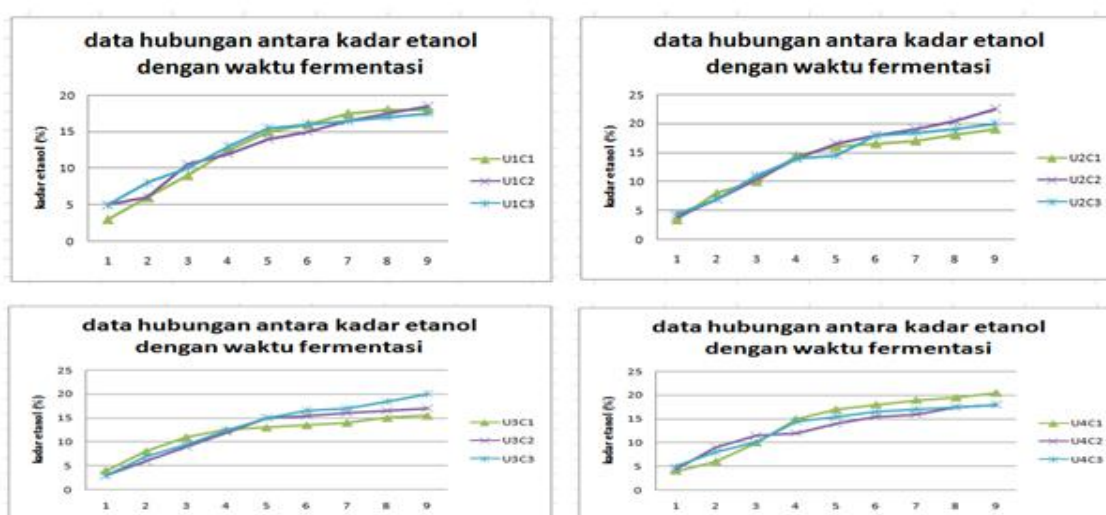
Tabel 4. Nilai kadar etanol (%) dari fermentasi hari pertama hingga hari kesembilan

PERLAKUAN (%)	HARI								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
U1C1	3	6	9	12,5	15	16	17,5	18	18
U2C1	3,5	8	10	14,5	16	16,5	17	18	19
U3C1	4	8	11	12,5	13	13,5	14	15	15,5
U4C1	4	6	10	15	17	18	19	19,5	20,5
U1C2	5	6	10,5	12	14	15	16,5	17,5	18,5
U2C2	4	7	10,5	14	16,5	18	19	20,5	22,5
U3C2	3	6	9	12	15	15,5	16	16,5	17
U4C2	4,5	9	11,5	12	14	15,5	16	17,5	18
U1C3	5	8	10	13	15,5	16	16,5	17	17,5
U2C3	4,5	7	11	14	14,5	18	18,5	19	20
U3C3	3	7	9,5	12,5	15	16,5	17	18,5	20
U4C3	5	8	10	14,5	15,5	16,5	17	17,5	18

Berdasarkan dari data Tabel 4 dapat terlihat bahwa untuk semua perlakuan memberikan pengaruh terhadap kadar bioetanol pada hari pertama hingga hari kesembilan. Dapat dilihat pada semua perlakuan mengalami peningkatan kadar bioetanol di dalam media fermentasi dari hari pertama hingga akhir fermentasi, hal ini disebabkan karena sel merombak gula di dalam media fermentasi dan memanfaatkan gula didalam media sebagai pembentuk energi, selain gula

dimanfaatkan untuk dirombak menjadi bioetanol.

Pada Tabel 10 perlakuan yang memiliki kadar bioetanol yang besar adalah perlakuan U_2C_2 dimana dapat dilihat kadar bioetanol pada sampel tersebut adalah 22,5%. Perlakuan U_2C_2 ini memiliki kadar bioetanol yang cukup besar dibandingkan dengan perlakuan-perlakuan lainnya. Untuk grafik nilai kadar bioetanol dapat melihat Gambar 4.



Gambar 4. Pengamatan kadar bioetanol setiap hari

Dari Gambar 4 dapat dilihat bahwa terjadi kenaikan grafik untuk setiap perlakuan pada penelitian ini, hal ini dikarenakan sel yang sudah dapat beradaptasi dengan media memanfaatkan gula di dalam media untuk energi dan membentuk bioetanol setiap harinya. Jumlah bioetanol yang terbanyak pada penelitian ini adalah perlakuan U₂C₂ yang terdiri dari faktor urea 0,2 g/l dan *Cordyceps mycellium* 0,5 g/l. Perlakuan U₂C₂ menghasilkan bioetanol dengan kadar 22,5% tingginya bioetanol pada perlakuan U₂C₂ sesuai dengan jumlah kadar gula reduksi pada Gambar 10, dimana pada perhitungan kadar gula reduksi U₂C₂ merupakan kadar gula reduksi yang paling sedikit jumlahnya dari semua perlakuan. Hal ini dikarenakan penggunaan urea pada penelitian ini yang dapat dimanfaatkan oleh sel khamir hanya sebanyak 0,2 g/l, jumlah ini merupakan jumlah yang sudah maksimal dalam penggunaannya bagi sel.

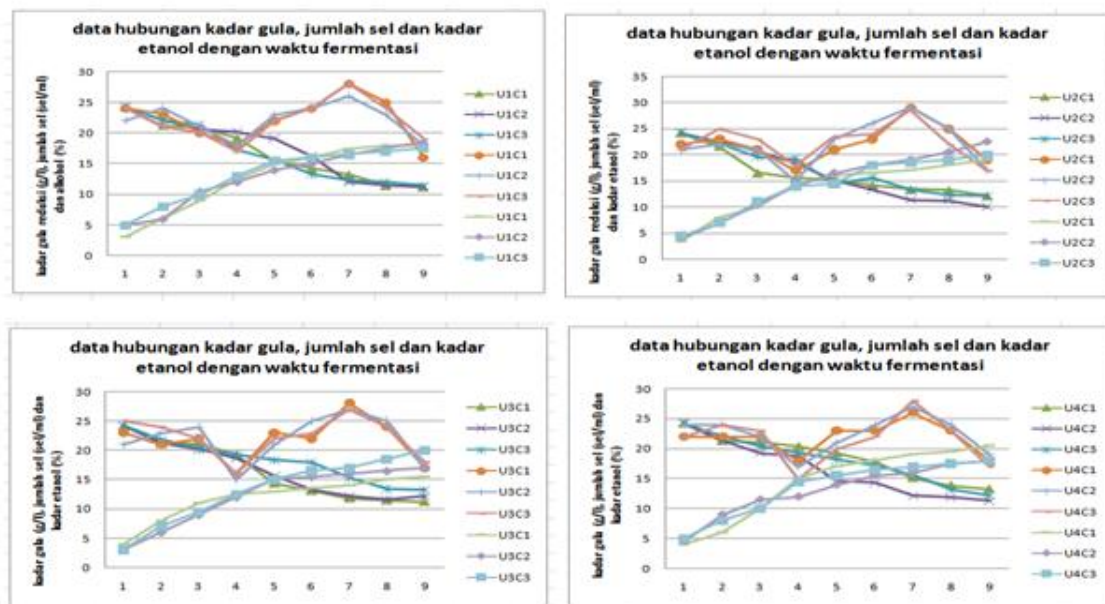
Apabila penggunaannya berlebih ditakutkan sel tidak dapat memanfaatkan secara optimal unsur nitrogen di dalam urea. Berbeda dengan penelitian Sapariantin (2006) yaitu penggunaan urea yang terbaik 0,6 g/l, ini berbanding terbalik dengan penelitian ini dimana penggunaan yang terbaik dengan media fermentasi ini adalah 0,2 g/l. Hal ini dapat terjadi karena pada penelitian ini tidak adanya penambahan *Tween 80TM* media yang memiliki keunggulan penambahan *Tween 80TM* dimana penambahan ini dapat memberikan pengaruh yang cukup besar

dalam konsumsi gula dan produksi bioetanol, media yang tidak menggunakan *Tween 80TM* memiliki sel yang bekerja lambat dalam produksi etanol dan konsumsi gula. Dibandingkan dengan yang menggunakan *Tween 80TM*.

Sedangkan untuk jumlah penggunaan *Cordyceps mycellium* jumlah 0,5 g/l ini merupakan jumlah yang sudah maksimal dan pas dalam penelitian ini dimana sel dapat memanfaatkan jumlah tersebut secara optimal dalam pembentukan bioetanol. Jumlah ini sudah sesuai menurut Altawanova (2015) penggunaan terbaik penggunaan *Cordyceps mycellium* dalam penelitiannya adalah 0,5 g/l.

Hubungan Kadar Gula Reduksi, Jumlah Sel dan Etanol Selama Proses Fermentasi

Jumlah rata-rata mikroba memiliki hubungan yang tidak sama dengan jumlah konsentrasi gula sisa rata-rata setiap waktu fermentasi, semakin lama waktu fermentasi dilakukan maka konsentrasi gula sisa akan semakin menurun sedangkan jumlah sel mikroba semakin sedikit biasanya dan bioetanol yang dihasilkan juga mengalami peningkatan. Dapat dilihat bahwa untuk semua perlakuan dari hari pertama hingga hari kesembilan mengalami kenaikan dan penurunan setiap hari untuk semua perlakuan pada Gambar 5.



Gambar 5. Pengamatan derajat keasaman (pH) setiap hari

Berdasarkan Gambar 5 menunjukkan hubungan antara perubahan kadar gula dengan jumlah sel serta jumlah bioetanol selama proses fermentasi semi sinambung. Pada semua perlakuan ada beberapa perlakuan yang mengalami penurunan yang cukup drastis seperti pada sampel U_2C_2 pada konsumsi gula. Penurunan jumlah gula terjadi karena adanya konsumsi gula oleh sel khamir untuk melakukan metabolisme dan menghasilkan bioetanol.

Gula didalam media yang dikonsumsi oleh sel akan membuat sel bertambah didalam medium dikarenakan sel memanfaatkan gula tersebut untuk konsumsi dan berkembang biak, ditambah lagi dengan penambahan nutrisi oleh urea membuat sel mendapatkan nutrisi yang kurang didalam media seperti unsur nitrogen. Nitrogen sangat penting bagi sel khamir untuk metabolisme dan memperbanyak diri, nitrogen banyak di dapat didalam pupuk urea dimana Pupuk urea banyak mengandung unsur nitrogen yaitu sebesar 84%. Semakin banyaknya

konsumsi gula maka jumlah sel dan etanol pasti akan mengalami peningkatan karena sel memanfaatkan gula dan unsur nitrogen untuk berkembangbiak. Semakin banyak sel maka etanol seiring waktu juga akan dihasilkan karena selain memanfaatkan gula sel juga menghasilkan etanol dari rombakan gula, yang memecah gula menjadi gula-gula sederhana dan merombaknya menjadi etanol secara anaerob. Sama halnya dengan gula didalam media, semakin hari akan semakin habis karena gula di dimanfaatkan terus menerus oleh sel khamir untuk membentuk bioetanol. Sama halnya dengan sel, sel lama kelamaan akan juga mengalami fase kematian apabila nutrisi dan makanan bagi sel telah habis karena terus menerus dipakai. Dan hasil dari perombakkan gula selama fermentasi tersebut disebut etanol. Jadi dapat dilihat hubungan kadar gula dengan jumlah sel dan kadar bioetanol pada penelitian semuanya sejalan dan bekerja dengan baik.

Sedangkan untuk fungsi dari *Cordyceps mycellium* dalam penelitian ini dapat dilihat pada semua perlakuan untuk jumlah sel dan bioetanol pada hari keempat semua perlakuan di tambahkan nutrisi untuk meoptimalkan kinerja dalam pembentukan bioetanol dan jumlah sel. Perobahan dapat dilihat pada hari kelima semua perlakuan mengalami peningkatan jumlah sel, hal ini membuat penambahan nutrisi pada sel dengan *Cordyceps mycellium* berguna bagi sel khamir untuk mengoptimalkan sel dalam memperbanyak diri dan mencegahnya mati karena tercuci oleh bioetanol yang terbentuk.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Selama proses fermentasi, sel *Saccharomyces cereviceae* mengalami *Osmotic shock* karena tingginya konsentrasi gula dalam medium fermentasi, konsumsi gula tidak terlalu tinggi dan tidak terjadi penurunan gula secara drastis. *Cordyceps mycellium* sebagai komponen utama pembentuk membran lipid yang berperan penting dalam regulasi osmotik, penyerapan nutrien, ekskresi dan biosintetis dinding sel sedangkan urea yang tinggi akan kandungan unsur nitrogen dapat membantu sel menjelang akhir fermentasi. Sel mengalami lisis akibat larutnya fosfolipid yang ada pada membran sel di dalam bioetanol yang dihasilkan selama fermentasi berlangsung. Urea 0,2 g/l dan *Cordyceps mycellium* 0,5 g/l dengan konsentrasi gula media fermentasi sebesar 25% menghasilkan kadar bioetanol tertinggi pada akhir fermentasi hari ke sembilan yaitu sebesar 22,5 %.

Saran

Perlunya penelitian lanjutan dengan mengkombinasikan nutrisi lain yang dapat dijadikan sebagai sumber asam lemak dan nutrisi bagi mikroorganisme

yang digunakan dalam proses fermentasi, agar pertumbuhan sel bisa lebih baik dan waktu fermentasi bisa diperpanjang lagi. Baik dengan metode *batch* maupun *fed batch fermentation* agar bioetanol yang di hasilkan lebih optimal.

DAFTAR PUSTAKA

- Altawanova, E. 2015. **Fermentasi nira nipah menjadi bioetanol menggunakan teknik immobilisasi sel *Saccharomyces cereviceae***. Skripsi Fakultas Teknik Universitas Riau. Pekanbaru.
- Andika, D. 2015. **Penambahan Tween80tm Dan Ergosterol Untuk Mengatasi Osmotic Shock Dan Kerusakan Membran Sel Dalam Proses Fermentasi Bioetanol Dari Nira Nipah Kental**. Skripsi Fakultas Pertanian. Universitas Riau. Pekanbaru
- Badan pusat statistik. 2012. **Pemakaian Bahan Bakar Minyak**. Badan Pusat Statistik Indonesia.
- Boulton, C. dan D. Quain. 2001. **In Biochemistry of fermentation. Brewing yeast and fermentation** (pp. 69-142). Blackwell Science. London.
- Draphco, C .M., N. P. Nhuan, dan T.H. Walker. 2008. **Biofuels Engineering Process Technology**. The McGraw-Hill Companies, Inc. USA.
- Dawes, T. C., dan S. Sutherland. 1992. **A study of ethanol tolerance in yeast. Critical Reviews in Biotechnology** 9(4): 287–304.
- Elveri, W. 2010. **Proses Fermentasi Fed-Batch untuk Produksi**

- Dekstranase dengan Streptococcus Sp. B7.** Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi Foleta Institusi Pertanian Bogor. Bogor Jawa Barat.
- Laopaiboon, L., P. Thanonkeo., S. Naunpheng., P. Jaisil., dan P. Laopaiboon. 2007. **Ethanol production from sweet shorgum juice in batch and fed batch fermentation by *Saccharomyces cerevisiae*** TISTR 5048. Journal Microbiology and Biotechnology 23 (10): 1497-1501.
- Pinus dan Marsono. 2009. **Petunjuk Penggunaan Pupuk.** Penebar Swadaya. Jakarta.
- Restuhadi, F., B. Djamin., A. Idral., Chairul, dan S. Hadi. 2012. **Pemanfaatan potensi nira nipah dalam merevitalisasi industri bioetanol di kabupaten bengkalis provinsi riau.** Universitas Riau. Pekanbaru.
- Rubatzky dan Yamaguchi. 1998. **Plant Physiology.** Springer. Jepang .629 p.
- Sapariantin, E., T. Purwoko., R. Setiyaningsih. 2006. **Fermentasi Etanol Sari Buah Semu Jambu Mete (*Anacardium occidentale L*) oleh *Zymomonas mobilis* dengan Penambahan Urea.** Jurnal Bioteknologi. 3 (2): 50-55.
- Situmorang, B. 2015. **Bioetanol dari nira nipah kental secara semi sinambung dengan penambahan tween80TM dan ergosterol.** Skripsi Fakultas Pertanian Universitas riau. Pekanbaru.
- Sudarmadji, S., B. Haryono, dan Suhardi. 1997. **Prosedur Analisa Untuk Bahan Makanan dan Pertanian.** Liberty. Yogyakarta.
- Tamunaidu, P., T. Kakihira, H. Miyasaka, dan S. Saka. 2011. **Prospect of Nipa Sap for Bioethanol Production.** Springer. Jepang.
- Waites, M. J., N.L. Morgan., J.S. Rockey., dan G. Highton. 2001. **Industrial Microbiology : An Introduction.** Blackwell Science Ltd. London.